

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Escherichia coli*

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi pewarnaan Gram dan *microbact test*. Melalui identifikasi ulang dengan pewarnaan Gram, didapatkan sel bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna merah.



Gambar 5.1 *Escherichia coli* dengan pengecatan Gram. Tampak pada ujung petunjuk bakteri gram negatif berbentuk batang berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 5.2 *Escherichia coli* ditanam pada media *Macconkey* agar, koloni berwarna merah (laktose fermenter)

Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia, dalam penelitian ini digunakan *Microbact System test*. Sebelum dilakukan uji *microbact* ini, bakteri diuji oksidase dengan menggoreskan koloni bakteri pada *strip* oksidase dan dibiarkan 5 menit. Hasilnya menunjukkan oksidase negatif, yaitu dengan tidak adanya perubahan warna *strip* menjadi biru tua dan hanya tampak adanya goresan bakteri pada *strip* oksidase.



Gambar 5.3 Hasil uji *strip* oksidase. Berdasarkan gambar tersebut bakteri merupakan bakteri gram negatif yang dilihat dari adanya hasil goresan bakteri pada *strip* oksidase.

Setelah itu dilanjutkan uji *microbact* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 12A sumuran *microbact system* dan diinkubasi 18 jam pada suhu 37°C. Berikut adalah hasil *microbact test* :



Gambar 5.4 Hasil Scan *Microbact Test*. Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 96,39% sebagai *Escherichia coli*

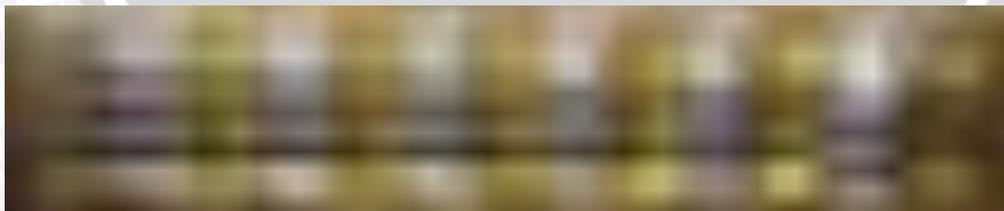
5.1.2 Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis yang diperoleh dari penelitian pendahuluan sebelumnya. Pada penelitian pendahuluan untuk mendapatkan Kadar Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode dilusi tabung diberikan konsentrasi dari 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,1% pada dilusi tabung dilihat kekeruhannya, kemudian ditanam pada media NAP untuk melihat pada jarak konsentrasi berapa bakteri sudah mulai tidak tumbuh dan pada konsentrasi berapa bakteri tersebut sudah tidak tumbuh. Pada media NAP didapatkan pada konsentrasi 100% bakteri tidak tumbuh dan pada konsentrasi 50% didapatkan bakteri masih tumbuh cukup banyak. Sehingga dilakukan lagi penelitian pendahuluan pada dilusi tabung dengan konsentrasi 50%, 55%, 60%, 65%, 70%,

dan 75%. Pada dilusi tabung dilihat kekeruhannya dan kemudian dilakukan penanaman pada media NAP dengan konsentrasi yang sama. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan adanya jumlah koloni bakteri pada media NAP sudah mulai terhambat pertumbuhannya pada konsentrasi 75%. Sehingga dari metode dilusi tabung tersebut konsentrasi 75% digunakan sebagai Kadar Hambat Minimum. Sehingga konsentrasi yang digunakan adalah 75%, 80%, 85%, 90% 95% dan 100%. Pengamatan pertumbuhan bakteri untuk menentukan KHM menggunakan metode dilusi tabung dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat dibelakang tabung. Bila semakin jernih maka garis hitam semakin terlihat, menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, bila semakin keruh maka garis hitam akan semakin tidak tampak, ini menandakan banyak bakteri yang tumbuh pada tabung tersebut. (Catatan: hasil dari penelitian pendahuluan dapat dilihat pada lampiran).

5.1.3 Hasil Penentuan KHM

0% 75% 80% 85% 90% 95% 100%



Gambar 5.5 Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* untuk uji KHM. Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, pertumbuhan bakteri semakin berkurang.

Gambar 5.5 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis dan bakteri dengan konsentrasi 75 %, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, dan 0% (Kontrol Kuman / KK). Tabung akan diinkubasikan selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

Hasil pengamatan pada tabung (Gambar 5.4) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis yang diberikan, semakin sedikit bakteri yang tumbuh (bandingkan dengan tabung KK atau konsentrasi 0% dan garis-garis hitam semakin jelas).

Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis sebagai antimikroba. Berdasarkan Gambar 5.4, penulis menetapkan konsentrasi 75% sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dapat dilihat dari mulai berkurangnya kekeruhan tabung dan garis-garis hitam mulai tampak.

5.1.4 Hasil Penentuan KBM

Dilakukan penanaman dengan metode *streaking* dari hasil dilusi tabung pada media NAP (*Nutrient Agar Plate*) untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dan perulangan dengan alat *colony counter*. Berikut tabel dan gambar hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi

Tabel 5.1 Jumlah koloni *Escherichia coli* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Nipis

Konsentrasi	Jumlah Koloni (CFU/ml)					Rata-rata
	1	2	3	4	Total	
0%	31.10^4	$29,8.10^4$	$30,3.10^4$	$29,5.10^4$	$120,6.10^4$	$30,15.10^4$
75%	$29,8. 10^4$	$28,7.10^4$	$27,9. 10^4$	$28,5.10^4$	$114,9.10^4$	$28,72.10^4$
80%	$21,1.10^4$	21.10^4	$19,8.10^4$	$20,2.10^4$	$82,1.10^4$	$20,52.10^4$
85%	$8,4.10^4$	$9,7. 10^4$	$7,6. 10^4$	$9. 10^4$	$34,7.10^4$	$8,67.10^4$
90%	$2,7.10^4$	$2,1.10^4$	$3,6.10^4$	$1,9.10^4$	$10,3.10^4$	$2,57.10^4$
95%	$0,9. 10^4$	$0,4. 10^4$	$1,1. 10^4$	$0,1. 10^4$	$2,5. 10^4$	$0,625.10^4$
100%	0	0	0	0	0	0
OI	$2,58.10^6$	$2,87.10^6$	$2,66.10^6$	$2,83.10^6$	$10,94.10^6$	$2,7.10^6$





Gambar 5.6 Hasil *Streaking Escherichia coli* pada Medium NAP untuk uji KBM. A : *Escherichia coli* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%. Tampak koloni yang tumbuh (berupa bintik-bintik putih) pada konsentrasi 0%; B : *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 75%, tampak terlihat koloni bakteri yang tumbuh telah berkurang; C : *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 80%. Koloni bakteri yang tumbuh lebih sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 75%; D: *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 85%. Pertumbuhan bakteri semakin sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi 80%; E: *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 90%. Pertumbuhan bakteri semakin sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi 85%; F : *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 95%. Pertumbuhan bakteri semakin sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi 90%; G : *Escherichia coli* dengan konsentrasi ekstrak 100%. Tampak koloni bakteri sama sekali tidak tumbuh; H: *Original Inoculum* (OI) yang digoreskan pada *plate*, digunakan sebagai acuan dalam menghitung KBM

Berdasarkan Gambar 5.6 dan Tabel 5.1 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 100% dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu $< 0,1\%$ dari OI (*Original Inoculum* : $2,7 \times 10^6$ CFU/ml). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang.

5.2 Analisis Data Hasil Pengujian Jumlah Koloni

Data jumlah koloni bakteri terlebih dahulu diuji untuk normalitas Kolmogorov-Smirnov dan homogenitas sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*. Jika dari hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0,05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*. Hasil uji homogenitas

Pada hasil pengujian menunjukkan nilai dari levene test memiliki nilai signifikansi lebih besar dari alpha 0,05. oleh karena nilai $p(0,132) > 0,05$, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai ragam yang homogen.

Selain uji kehomogenan ragam juga dilakukan pengujian normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diuji mempunyai distribusi yang normal atau tidak dengan menggunakan uji *kolmogorof smirnof test*. Dari hasil pengujian normalitas menunjukkan nilai dari *kolmogorof smirnof test* dengan nilai signifikansi ($p=0,194$) $> 0,05$ untuk semua waktu pengamatan, maka H_0 diterima dan dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi yang tersebar dengan normal.

Dengan demikian pengujian dengan menggunakan ANOVA dapat dilanjutkan karena kedua asumsi (uji homogenitas dan uji *kolmogorof smirnof*) sudah terpenuhi.

Selanjutnya dapat dilanjutkan dengan uji *One way* ANOVA. Uji *One way* ANOVA bertujuan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Uji *One way* ANOVA juga untuk menguji apakah ada perbedaan yang bermakna antara perlakuan konsentrasi satu dengan konsentrasi yang lain, maka dilakukan analisis dengan menggunakan uji *One way* ANOVA, Hasil dari uji *One way* ANOVA didapatkan bahwa jumlah koloni memiliki nilai F hitung sebesar 1606,744 dan $p = 0.000$. sedangkan F tabel pada $df_1 = 6$; $df_2 = 21$ sebesar 2,573. Karena untuk mempunyai nilai $p < 0,05$ dan F hitung $> F$ tabel, maka tolak H_0 , yang berarti bahwa terdapat perbedaan perlakuan yang signifikan antara perlakuan. Pada tingkat kepercayaan 95%. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan jumlah koloni dapat disebabkan oleh konsentrasi kelompok

perlakuan. Kemudian dilakukan uji lanjut menggunakan *tukey* untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni pada konsentrasi, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan *tukey* dan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai perbedaan perlakuan nilai rata – rata kelompok perlakuan tersebut dapat dilakukan analisis Post Hoc Tests, adanya perbedaan nilai rata – rata antara kelompok perlakuan di tunjukkan jika perlakuan memiliki rata-rata yang terletak pada kolom berbeda. Konsentrasi 100% memiliki perbedaan yang tidak signifikan dengan konsentrasi 95% karena berada dalam satu kolom. Namun konsentrasi 100% dan 95% memberikan perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 90%, 85%, 80%, 75% dan 0% karena berada dalam kolom yang berbeda. Sedangkan konsentrasi 75% dan 0% tidak memberikan perbedaan yang signifikan karena berada pada kolom yang sama.

5.3 Analisis Data Regresi Linier

Analisis Regresi Linier Sederhana ini digunakan untuk menghitung besarnya pengaruh antara variabel bebas yaitu Konsentrasi (X), terhadap variabel terikat yaitu Jumlah Koloni (Y).

Hasil analisis regresi pada gambar 5.7 yang diolah maka ditemukan

$$Y = 34,690 - 0,289 X$$

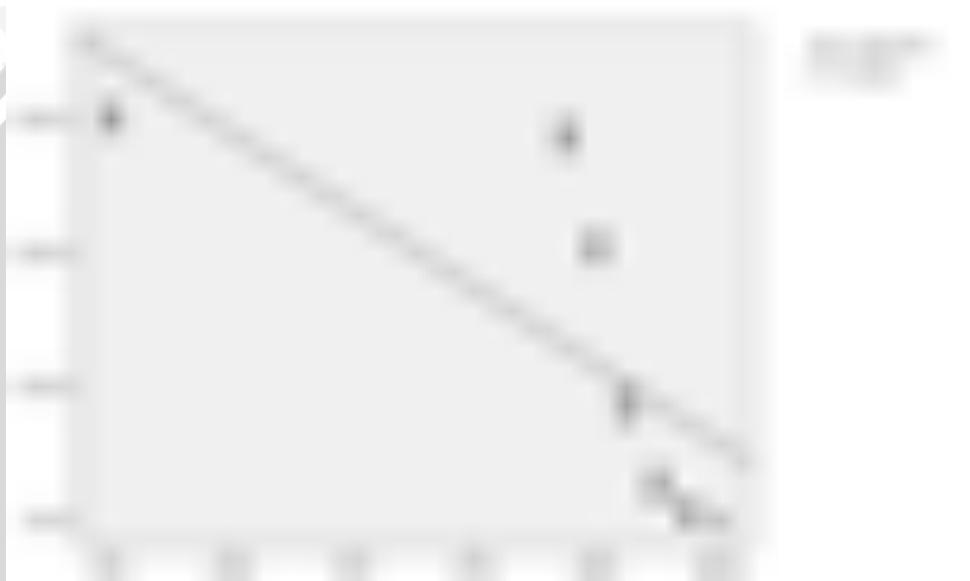
Dari persamaan di atas dapat diinterpretasikan sebagai berikut:

- $a = 34,690$ artinya Jumlah Koloni rata – rata sebesar 34,690 cfu/ml jika tidak ada variabel Konsentrasi.
- $b_1 = -0,289$ artinya Jumlah Koloni akan menurun sebesar 0,289 cfu/mle untuk setiap tambahan konsentrasi 1% dengan asumsi variabel yang

lainnya konstan. Jadi apabila konsentrasi mengalami peningkatan, maka Jumlah Koloni juga akan mengalami penurunan

Persamaan regresi linier berganda dilakukan dengan menggunakan bantuan SPSS for Windows ver 13.00 didapat model regresi yang dapat dilihat pada gambar 5.7

JUMLAH KOLONI X 10^4 CFU/ml



KONSENTRASI (%)

Gambar 5.7 Kurva Regresi Linier Jumlah Koloni untuk masing-masing konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk nipis dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi Tinggi: y = jumlah koloni bakteri, x = perlakuan dengan ekstrak etanol kulit buah jeruk nipis

5.3.1 Koefisien Determinasi

Koefisien determinasi digunakan untuk melihat kontribusi variabel bebas terhadap variabel terikat. Dari analisis perhitungan diperoleh nilai R^2 (koefisien determinasi) dan koefisien korelasi (R). Koefisien determinasi digunakan untuk menghitung besarnya pengaruh atau kontribusi variabel bebas yang terhadap variabel terikat. Dari analisis pada Tabel 5.4 diperoleh hasil R^2 (koefisien determinasi) sebesar 0,556. Artinya bahwa 55,6% variabel Jumlah Koloni akan

dipengaruhi oleh variabel bebasnya, yaitu konsentrasi. Sedangkan sisanya 44,4% variabel Jumlah Koloni akan dipengaruhi oleh variabel-variabel yang lain yang tidak dibahas dalam penelitian ini.

Dalam pencarian korelasi konsentrasi dengan jumlah koloni didapat koefisien korelasi yang menunjukkan besarnya hubungan antara variabel Konsentrasi dengan variabel Jumlah Koloni, nilai R (koefisien korelasi) sebesar -0,745. Nilai korelasi ini menunjukkan bahwa hubungan antara variabel Konsentrasi dengan variabel Jumlah Koloni termasuk kategori sangat kuat karena berada pada selang 0,6 – 0,8. Arah hubungan yang negatif menunjukkan jika Konsentrasi semakin meningkat maka akan diikuti penurunan Jumlah Koloni. Korelasi antara konsentrasi dengan variabel jumlah koloni memiliki nilai sig. sebesar $0,000 < 0,05$ sehingga memiliki hubungan yang bermakna.

5.3.2 F test / Serempak

Pengujian F atau pengujian model digunakan untuk mengetahui apakah hasil dari analisis regresi signifikan atau tidak, dengan kata lain model yang diduga tepat/sesuai atau tidak. Jika hasilnya signifikan, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Sedangkan jika hasilnya tidak signifikan, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak. Hal ini dapat juga dikatakan sebagai berikut :

H_0 ditolak jika sig. $F < \alpha$ (0,05)

H_0 diterima jika sig. $F > \alpha$ (0,05)

Berdasarkan hasil uji F/Serempak didapatkan nilai sig. F sebesar 0,000. Karena nilai sig. $F < \alpha$ (0,05) yaitu $0,000 < 0,05$ maka model analisis regresi adalah signifikan. Hal ini berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima sehingga dapat

disimpulkan bahwa Jumlah Koloni dapat dipengaruhi secara signifikan oleh variabel bebas yaitu Konsentrasi.

